

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/KR04/003554

International filing date: 31 December 2004 (31.12.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: KR

Number: 10-2004-0008047

Filing date: 06 February 2004 (06.02.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 17 May 2005 (17.05.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse



별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto
is a true copy from the records of the Korean Intellectual
Property Office

출 원 번 호 : 특허출원 2004년 제 0008047 호
Application Number 10-2004-0008047

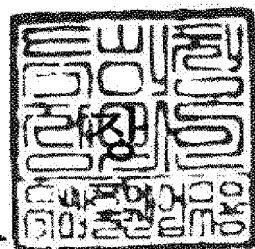
출 원 일 자 : 2004년 02월 06일
Date of Application FEB 06, 2004

출 원 인 : 한국 한의학 연구원
Applicant(s) Korea Institute of Oriental Medicine

2005 년 04 월 07 일

특 허 청

COMMISSIONER



【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【제출일자】	2004.02.06
【발명의 국문명칭】	혼합 생약조성물을 유효성분으로 하는 당뇨합병증의 예방 및 치료용 조성물
【발명의 영문명칭】	Composition comprising herbal mixture extract for prevention and treatment of diabetic complication
【출원인】	
【명칭】	한국한의학연구원
【출원인코드】	3-1998-112907-3
【대리인】	
【성명】	이원희
【대리인코드】	9-1998-000385-9
【포괄위임등록번호】	1999-053902-8
【발명자】	
【성명의 국문표기】	김진숙
【성명의 영문표기】	KIM,Jin Sook
【주민등록번호】	560914-2026111
【우편번호】	151-050
【주소】	서울특별시 관악구 봉천동 1615-17 반석블레스빌 804호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	김현정
【성명의 영문표기】	KIM,Hyunjung
【주민등록번호】	770403-2031222
【우편번호】	139-207

【주소】	서울특별시 노원구 상계7동 755		
【국적】	KR		
【발명자】			
【성명의 국문표기】	마진열		
【성명의 영문표기】	MA,Jinyeul		
【주민등록번호】	631220-1789714		
【우편번호】	305-330		
【주소】	대전광역시 유성구 지족동 열매마을 현대아파트 702동 140 3호		
【국적】	KR		
【우선권 주장】			
【출원국명】	KR		
【출원종류】	특허		
【출원번호】	10-2003-0044893		
【출원일자】	2003.07.03		
【증명서류】	첨부		
【심사청구】	청구		
【취지】	특허법 제42조의 규정에 의한 출원, 특허법 제60조의 규정 에 의한 출원심사 를 청구합니다. 대리인 이원희 (인)		
【수수료】			
【기본출원료】	36	면	38,000 원
【가산출원료】	0	면	0 원
【우선권주장료】	1	건	26,000 원
【심사청구료】	8	항	365,000 원
【합계】	429,000 원		
【감면사유】	정부출연연구기관		

【감면후 수수료】 227,500 원

【첨부서류】 1. 요약서 · 명세서(도면)_1통

【요약서】

【요약】

본 발명은 혼합 생약조성물을 유효성분으로 하는 당뇨합병증의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것으로, 상세하게는 대극, 강후박, 초갈근 및 감초를 각각 5~85 중량% 포함함을 특징으로 한다.

본 발명의 혼합 생약조성물은 최종당화산물의 생성을 효과적으로 억제하고, 혈당 강하 효과가 우수하며, 체중저하 방지, 신장비대 현상 저하와 BUN, 트리글리세라이드, 크레아티닌 등의 수치가 유의성 있게 감소되어 신장 기능의 악화를 억제하며, 수정체 혼탁율을 현저히 감소시켜 백내장 현상이 자연 및 예방된다.

따라서, 본 발명의 혼합 생약조성물은 최종당화산물의 생성에서 기인되는 당뇨합병증의 예방 및 치료에 유용하게 사용될 수 있다. 또한, 본 발명의 혼합 생약조성물은 최종당화산물의 생성을 억제하는 경우 자유라디칼 생성의 저하 및 산화적 스트레스의 유발 비율이 줄어들어, 산화적 스트레스에 의한 노화의 방지 및 자연에 유용하게 사용될 수 있다.

【대표도】

도 1

【명세서】

【발명의 명칭】

혼합 생약조성물을 유효성분으로 하는 당뇨합병증의 예방 및 치료용 조성물
{Composition comprising herbal mixture extract for prevention and treatment
of diabetic complication}

【도면의 간단한 설명】

- <1> 도 1은 본 발명의 혼합 생약조성물의 최종당화산물 생성의 제효능을 나타낸
도이다.
- <2> 도 2는 본 발명의 혼합 생약조성물을 투여한 당뇨 유발 랫트의 안구를 육안
으로 관찰한 도이다.
- <3> 도 3은 본 발명의 혼합 생약조성물을 투여한 당뇨 유발 랫트의 안구로부터
분리한 수정체의 혼탁율을 나타낸 도이다.

【발명의 상세한 설명】

【발명의 목적】

【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

- <4> 본 발명은 혼합 생약조성물을 유효성분으로 하는 당뇨합병증의 예방 및 치료
용 조성물에 관한 것으로, 상세하게는 대극, 강후박, 초갈근 및 감초를 각각 5~85

중량% 포함함을 특징으로 한다.

<5> 당뇨합병증은 당뇨병에 의한 사망의 중요원인으로서, 당뇨성 망막병증(retinopathy), 당뇨성 백내장(cataract), 당뇨성 신증(nephropathy), 당뇨성 신경병증(Neuropathy) 등으로 나타난다. 특히, 당뇨성 백내장은 실명까지 초래하며, 만성 당뇨성 신증은 말기 신부전의 가장 중요한 원인으로, 혈액 투석 치료 및 장기이식 이외에는 다른 치료방법이 없는 실정이다. 이러한 당뇨합병증은 당뇨병을 치료하여 정상적인 혈당 농도를 회복한 경우에도 진행되는 것을 볼 수 있는데, 이는 고혈당 상태의 지속으로 인한 단백질의 비효소적 당화반응의 결과에 의하여 비가역적으로 생성된 최종당화산물(advanced glycation endproducts, AGEs)이 그 주원인 중의 하나로 알려져 있다.

<6> 당뇨합병증을 유발하는 주요 기전인 단백질의 비효소적 당화반응(nonenzymatic glycation of protein)은 단백질의 리신 잔기 등의 아미노산 그룹과 환원당이 효소 작용 없이 축합반응 즉 밀리아드 반응에 의한 것으로, 이 반응의 결과로 최종당화산물이 생성된다. 단백질의 비효소적 당화반응은 (1) 단백질의 리신 잔기 등의 아미노산 그룹과 환원당의 알데하이드 또는 케톤이 효소 작용 없이 친핵성 침가 반응을 하여 초기 단계 산물인 쉬프염기(schiff base)를 형성하고, 상기 쉬프염기와 인접한 케토아민 어닥트 (ketoamine adduct)가 서로 축합하여 가역적인 아마도리형의 조기당화산물이 생성되는 단계와 (2) 고혈당 상태가 지속되어 가역적인 아마도리형의 조기당화산물이 분해되지 않고 재배열(rearrangement)되며 단백질과 교차결합(cross-linking)하여 비가역적인 최종당화산물이 생성되는 단계로 나눌 수

있다.

<7> 가역적인 아마도리형의 조기당화산물과 달리 최종당화산물은 비가역적인 반응 산물이므로, 일단 생성되면 혈당이 정상으로 회복되어도 분해되지 않고 단백질 생존기간 동안 조직에 축적되어 조직의 구조와 기능을 비정상적으로 변화시킨다 (Vinson, J. A. et al., 1996, *J. Nutritional Biochemistry* 7: 559-663; Smith, P. R. et al., 1992, *Eur. J. Biochem.*, 210: 729-739). 예를 들면, 포도당과 여러 종류의 단백질간의 반응에 의하여 생성된 최종당화산물 중 하나인 당화 알부민은 만성 당뇨성 신증을 일으키는 중요한 요인으로 작용한다. 당화 알부민은 당화가 진행되지 않은 정상 알부민에 비해 더 용이하게 신사구체 세포 내로 유입되고, 고농도의 포도당은 메산지움 세포를 자극하여 세포외 기질(extracellular matrix) 합성을 증가시킨다. 과도하게 유입된 당화 알부민과 증가된 세포외 기질로 인하여 신사구체의 섬유화가 야기된다. 이와 같은 기전으로 신사구체가 계속 손상 받게 되어 혈액투석 또는 장기이식 등의 극단적인 치료방법을 쓸 수 밖에 없는 단계에 이르게 되는 것이다. 또한, 만성 당뇨로 인하여 동맥벽에서는 콜라겐이, 신사구체에서는 기저막성 단백질이 최종당화산물과 결합되어 조직에 축적됨이 보고된 바 있다 (Brownlee, M., et al., 1986, *Sciences*, 232, 1629-1632). 이처럼 비효소적 단백질 당화반응에 의하여 기저막, 혈장 알부민, 수정체 단백질, 피브린, 콜라겐 등의 단백질에서 당화가 일어나며, 생성된 최종당화산물이 조직의 구조와 기능을 비정상적으로 변화시켜 당뇨성 망막병증, 당뇨성 백내장, 당뇨성 신증, 당뇨성 신경병증 등의 만성 당뇨합병증을 유발시키게 된다. 또한 비효소적 단백질 당화반응에서 생

성된 최종당화산물은 노화에도 중요한 역할을 한다고 알려져 있다(Monnier et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 583, 1984; Lee et al., Biochem. Biophys. Res. Comm., 123: 888, 1984; Diabetologia, 38: 357-394).

<8> 전술한 바와 같이 비효소적 단백질 당화반응에서 생성된 최종당화산물은 당뇨합병증 및 노화의 진행에 주원인이 되고 있어, 당뇨합병증 및 노화의 진행을 막기 위해서는 최종당화산물의 생성을 억제할 필요가 있다.

<9> 현재, 단백질 당화 억제제로 유일한 합성제제인 아미노구아니딘 · HCl (aminoguanidine · HCl)은 친핵성 히드라진(hydrazine)으로 아마도리 산물과 결합하여 단백질과의 교차결합을 방지함으로써 최종당화산물의 생성을 억제하여 합병증으로 진전되는 것을 지연 또는 방지한다(Brownlee, M., et al., 1986, Sciences, 232, 1629-1632; Edelstein, D. et al., 1992, Diabetes, 41, 26-29). 아미노구아니딘 · HCl은 당뇨합병증의 예방 및 치료에 가장 유망한 합성 의약품으로 제 3상 임상실험까지 진행되었으나, 장기간 투여시 독성이 유발되는 문제점이 있어 보다 안전한 약제의 개발이 요망되고 있다.

<10> 한편, 대극(Euphorbiae Radix)은 대극과에 속하는 다년생 초본인 대극 (*Euphorbia pekinensis*)의 뿌리로서, 갈릭산(gallic acid), 메틸갈레이트 (methylgallate), 3-O-갈로일시키믹산(3-O-gallylshikimic acid) 등을 함유하고 있으며(Kim, J. G., et al., Yakhak Hoeji, 1996, 40, 170-176), 그 약성은 고(苦), 신(辛), 한(寒)하며 비(脾), 폐(肺), 위(胃)로 들어가 사수축음(瀉水逐飲), 소종산결(消腫散結) 등의 효능을 나타낸다(신민교, 원색 임상본초학, 영림사, 487,

1996).

<11> 후박(Magnolia Bark)은 목련과에 속하는 일본목련 (*Magnolia obovata*, *M. officinalis*, *M. officinalis* var. *biloba*)의 나무껍질을 건조한 것으로서, 한방적으로 조습소담(燥濕消痰), 하기제만(下氣除滿)의 효능을 지니고 있어 습체상중(濕滯傷中), 완비토사, 식적기체(食積氣滯), 복창변비(腹脹便秘), 담음천해(痰飲喘咳)를 치료하며(국가약전위원회, 중화민국공화국약전, I부, 204, 화학공업출판사, 북경), 알파, 베타, 감마-오이데스몰(α , β , γ -eudesmol) 등의 정유, 마그놀올(magnolol), 호노키올(honokiol), 알카로이드, 사포닌 등이 함유되어 있다. 약리작용으로는 항알러지 효능(Shin, T. Y., et al., 2001, *Arch. Pharm. Res.*, 24: 249-255), 세포사멸효과(Park, H. J., et al., 2001, *Arch. Pharm. Res.*, 24: 342-348), NO 합성 억제효과, TNF- α 발현억제 효과(Son, H. J., et al., 2000, *Planata med.*, 66:467-471), 항진균효과(Bang, K. H., et al., 2000, *Arch. Pharm. Res.*, 23: 46-49), 정신안정효과(Kuribara, H., et al., 1999, *J. Pharm. Pharmacol.*, 51: 97-103) 및 피부암억제효과(Komoshima, T. et al., 1991, *J. Nat. Prod.*, 54: 816-822) 등의 다양한 효능이 있음이 보고된 바 있다.

<12> 갈근(Puerariae Radix)은 콩과에 속한 다년생 등본(藤本)인 쥐(*Pueraria thunbergiana*; *P. lobata*)의 뿌리를 건조한 것으로서, 그 약성은 감(甘), 신(辛), 평(平)하며 비(脾), 위(胃)로 들어가 해표(解表), 수진(透疹), 생진(生津), 지사(止瀉)의 효능을 나타낸다. 약리작용으로는 해열작용, 혈압강하작용, 기억력증강, 뇌혈류량 증가, 관상동맥 확장작용, 심장기능 개선, 항부정맥 작용 등이 보고되었

다(김호철, 한약약리학, 집문당, 92-94, 2001).

<13> 감초(Glycyrrhizae radix)는 콩과에 속하는 다년생 초본인 유럽감초 (*Glycyrrhiza glabra*)와 만주감초(*G. uralensis*) 및 기타 동속식물의 뿌리 및 뿌리를 줄기를 건조한 것으로서, 그 약성은 감(甘), 평(平)하고, 비(脾), 위(胃), 심(心), 폐(肺)로 들어가 보중익기(補中益氣), 청열해독(清熱解毒), 유폐지소, 완급지통(緩急止痛), 조화제약(調和諸藥) 등의 효능을 나타낸다. 주성분으로는 트리테르펜사포닌(triterpen saponin)인 글리시리진(Glycyrrhizin)를 비롯하여 리퀴이리틴(liquiritin)등의 플라보노이드계 화합물 등을 함유하고 있다. 약리작용으로는 부신피질호르몬 유사작용, 항위궤양 효능, 평활근이완 작용, 간기능 보호작용, 소염, 항알러지작용, 항바이러스작용이 있다(김호철, 한약약리학, 집문당, 434-436, 2001).

<14> 최근에는 기존의 합성 화합물들에 의한 질환 치료제 개발의 한계와 치료시의 부작용 및 독성에 관한 문제점들로 인해 생약제제를 중심으로 한 질환 치료제의 개발이 활발히 진행되고 있다.

<15> 이에 본 발명자들은 당뇨합병증, 노화의 예방 및 치료를 위한 생약재를 연구 하던 중 대극, 강후박, 초갈근, 감초가 최종당화산물의 생성을 억제하는 효능이 있으며, 특히 이들이 각각 5~85 중량%로 이루어지는 혼합 생약조성물이 최종당화산물의 생성억제효능이 뛰어나 당뇨합병증의 예방 및 치료 뿐만 아니라 노화방지 및 지연에도 유용함을 발견하여 본 발명을 완성하였다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

- <16> 본 발명은 대극, 강후박, 초갈근 및 감초의 혼합 생약조성물을 유효성분으로 하는 당뇨합병증의 예방 및 치료용 조성물을 제공하고자 한다.
- <17> 또한, 본 발명은 상기 혼합 생약조성물을 유효성분으로 하는 노화방지 및 지연용 조성물을 제공하고자 한다.

【발명의 구성】

- <18> 본 발명은 대극, 강후박, 초갈근 및 감초의 혼합 생약조성물을 유효성분으로 하는 당뇨합병증의 예방 및 치료용 조성물을 제공한다.
- <19> 또한, 본 발명은 상기 혼합 생약조성물을 유효성분으로 하는 노화방지 및 지연용 조성물을 제공한다.
- <20> 이하, 본 발명에 대해 상세히 설명한다.
- <21> 본 발명의 혼합 생약조성물은 대극, 강후박, 초갈근 및 감초를 각각 5~85 중량% 포함하는 것을 특징으로 한다.
- <22> 본 발명의 혼합 생약조성물은 1) 대극, 강후박, 초갈근 및 감초 각각 5~85 중량%를 10~90%의 C₁ 내지 C₄의 알코올을 이용하여 추출한 후 여과하고, 진공농축하여 각각의 추출물을 제조하는 단계(제 1단계); 2) 제 1단계에서 얻어진 각각의 추출물을 혼합하는 단계(제 2단계)를 포함하여 제조된다.
- <23> 상기 1)단계에서 알코올은 10~90%의 C₁ 내지 C₄의 알코올을 사용할 수

있으며, 80% 에탄올이 바람직하며, 생약재의 5~10배(w/v)량을 가하는 것이 바람직하다.

<24> 제 1단계의 상기 강후박은 후박을 수치하여 제조한 것으로서 그 제조방법은 다음과 같다. 즉 미리 50~100℃로 달구어진 용기에 후박 100중량부에 대하여 건강 3중량부를 가하고, 상기 생약재의 5-10배(w/v)의 물을 넣어 후박이 물에 완전히 잠기게 한 후, 70~100℃의 온도를 유지하도록 가열한다. 물이 거의 증발된 때 후박을 꺼낸다. 이렇게 수치된 강후박은 후박보다 최종당화산물의 생성억제효능이 증대된다.

<25> 제 1단계의 상기 초갈근은 갈근을 수치하여 제조한 것으로서, 갈근 100g을 120~130℃에서 45분간 볶아 표면이 황색이 되고 갈색 반점이 나타나면 꺼내어 식힌다. 이렇게 수치된 초갈근은 갈근보다 최종당화산물의 생성억제효능이 증대된다.

<26> 본 발명의 혼합 생약조성물은 시험관내 실험에서 당뇨합병증을 유발하는 인자 중의 하나인 최종당화산물의 생성을 효과적으로 억제하고, 동물실험에서는 혈당 강하 효과가 우수하며, 당뇨 유발군에 비하여 체중이 증가하고 신장비대 현상 저하와 BUN, 트리글리세라이드, 크레아티닌 수치를 현저히 감소시켜 악화된 신장 기능을 회복시키며, 수정체 혼탁율이 당뇨 유발군에 비하여 현저히 낮게 나타나 백내장 발병의 자연 또는 예방에 유용하다.

<27> 따라서, 본 발명의 혼합 생약조성물은 최종당화산물의 생성에서 기인되는 당뇨합병증 즉, 당뇨성 망막병증, 당뇨성 백내장, 당뇨성 신증, 당뇨성 신경병증 등과 같은 당뇨합병증의 예방 및 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

- <28> 또한, 본 발명의 혼합 생약조성물은 최종당화산물의 생성을 억제하는 경우 자유라디칼 생성의 저하 및 산화적 스트레스의 유발 비율이 줄어들어, 산화적 스트레스에 의한 노화의 방지 및 자연에 유용하게 사용될 수 있다.
- <29> 본 발명의 혼합 생약조성물은 상기 혼합 생약재에 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다.
- <30> 상기 혼합 생약재는 임상 투여 시에 경구 또는 비경구로 투여가 가능하며 일반적인 의약품 제제의 형태로 사용될 수 있다.
- <31> 본 발명의 혼합 생약조성물은 각종의 투여 경로를 통하여 유효한 양으로 투여될 수 있다. 상기 용도는 약제학적으로 허용되는 담체를 함께 함유한다. 보다 구체적으로 약제학적으로 허용되는 담체로는 멸균용액, 정제, 코팅정 및 캡슐과 같은 공지된 제형들에 사용될 수 있는 표준의 약제학적 담체라면 어느 것이든 가능하다. 통상적으로 담체는 전분, 밀크, 당, 특정종류의 클레이, 젤라틴, 스테아린산, 탈크, 식물성 기름 또는 오일, 검, 글리콜류 등의 부형제 또는 기타 다른 공지의 부형제를 포함할 수 있으며 또한 풍미제, 색소 첨가제 및 다른 성분들이 포함될 수 있다. 본 발명의 혼합 생약조성물을 유효성분으로 함유한 조성물을 투여하기 위한 제제는 통상적인 방법으로 경구, 정맥내, 근육내, 경피 투여의 방법에 의해 투여할 수 있지만, 이들 방법에만 한정되는 것은 아니다. 실제 임상투여시에 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있는데, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 총진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제 및 캡

술제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상제제로는 혼탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제 및 보존제가 포함될 수 있다. 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 비경구로 투여할 수 있으며, 비경구 투여는 피하주사, 정맥주사 또는 근육내 주사에 의한다. 비경구 투여용 제형으로 제제화하기 위해서는 상기 생약조성물을 포함하여 안정제 또는 완충제와 함께 물에서 혼합하여 용액 또는 혼탁액으로 제조하고 이를 앰플 또는 바이알의 단위 투여형으로 제제한다.

<32> 본 발명의 혼합 생약조성물의 투여량은 체내에서 활성성분의 흡수도, 불활성화율, 배설속도, 환자의 연령, 성별 및 상태, 치료할 질병의 중증 정도에 따라 적절히 선택되나, 일반적으로 1일에 1회 내지 3회로 나누어 투여할 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물에서 상기 혼합 생약생약제를을 유효성분으로 함유하는 경우, 그 유효용량은 500~2,000 mg/kg/day 이고, 바람직하기로는 500~1,000 mg/kg/day 이다. 상기 제제의 정확한 양, 투여경로 및 횟수는 제제의 특성, 투여대상의 체중 및 상태, 그리고 사용하고자 하는 특정 유도체의 특성에 따라 용이하게 결정할 수 있다.

<33> 본 발명에서 상기 혼합 생약조성물은 실험용 랫트를 대상으로 한 급성독성검사 결과, 경구투여시 최소치사량(LD₅₀)은 적어도 6g/kg 이상으로 전혀 독성효과를

나타내지 않음으로써 생체 안정성이 매우 높다는 것을 알 수 있으며, 따라서 본 발명의 혼합 생약조성물은 생체에 대해 안전하게 투여될 수 있다.

<34> 본 발명의 혼합 생약조성물은 당뇨합병증의 예방 및 치료, 노화의 방지 및 자연을 위하여 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.

<35> 본 발명의 혼합 생약조성물은 당뇨합병증 및 노화에 기인하는 질환의 개선을 목적으로 건강식품에 첨가될 수 있다. 본 발명의 혼합 생약재를 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 혼합 생약재를 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합양은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 치치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시에 본 발명의 혼합 생약재는 원료에 대하여 15 중량% 이하, 바람직하게는 10 중량% 이하의 양으로 첨가된다. 그러나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

<36> 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.

<37> 본 발명의 건강음료 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스와 같은 디사카라이드, 및 텍스트린, 사이클로텍스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100㎖당 일반적으로 약 0.01~0.04g, 바람직하게는 약 0.02~0.03g 이다.

<38> 상기 외에 본 발명의 조성물은 여러가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 본 발명의 조성물은 천연 과일쥬스, 과일쥬스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0.01~0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

<39> 이하, 본 발명을 다음의 실시예 및 실험예에 의해 보다 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 발명의 범위가 실시예 및 실험예에 의해 한정되는 것은 아니다.

<40>

실시예 1 : 혼합 생약조성물의 제조

<41>

대극을 가루로 분쇄한 후 100g을 취하여 상온(20~30°C)에서 80%의 에탄올 수용액 1ℓ (에탄올: 증류수 = 80 : 20)를 가하여 상온에서 24시간 동안 추출하였다. 에탄올 추출액을 여과지로 여과한 후, 동일한 방법으로 5회 반복하여 추출하였다. 모든 추출액을 모아 감압 상태에서 농축하였다.

<42>

한편, 강후박, 초갈근 및 감초를 각각 100g씩 80%의 에탄올 수용액 1ℓ 를 이용하여 추출한 다음, 여과하고 진공 농축하여 각각의 추출물을 얻었다. 각 추출물은 대극 추출물 20g, 강후박 추출물 10g, 초갈근 추출물 20g, 감초 추출물 20g이었으며, 이중 10g씩을 취하여 혼합하여 혼합 생약조성물 40g을 얻었다.

<43>

실시예 2 : 혼합 생약조성물의 제조

<44>

대극, 강후박, 초갈근 및 감초를 가루로 분쇄한 후 각각 100g씩을 취하여 혼합한 후, 상온(20~30°C)에서 80%의 에탄올 수용액 1ℓ (에탄올: 증류수 = 80 : 20)를 가하여 상온에서 24시간 동안 추출하였다. 에탄올 추출액을 여과지로 여과한 후, 동일한 방법으로 5회 반복하여 추출하였다. 모든 추출액을 모아 감압 상태에서 농축하였다.

<45>

실험예 1 : 본 발명의 생약조성물의 최종당화산물 생성억제효능 분석

<46>

본 발명의 혼합 생약조성물의 최종당화산물 생성억제 효능을 알아보기 위하

여, 하기와 같은 실험을 수행하였다.

<47> **1. 본 발명의 혼합 생약조성물의 최종당화산물 생성억제 효능**

<48> 단백질원으로 소혈청알부민(bovine serum albumin, 이하 'BSA'라고 한다; 미국 시그마 제품)을 사용하였다. BSA를 10mg/ml의 농도가 되도록 50mM 인산 완충 용액(phosphate buffer; pH 7.4)에 가하여 제조하였다.

<49> 당원으로는 0.1 M 과당과 0.1 M 글루코스가 혼합된 액을 사용하였다.

<50> 상기 제조된 BSA 용액에 과당과 글루코스의 혼합액을 가하여 실험에 사용하였다.

<51> 상기 실시예 1에서 제조한 혼합 생약조성물을 15% 트윈 80에 용해한 후, 이를 상기 BSA와 당의 혼합액에 첨가하고 37°C에서 30일간 배양하였다. 이때 0.02% 소디움아자이드(sodium azide)를 항박테리아제로서 첨가하였다.

<52> 대조군은 BSA와 당 혼합액을 배양한 것이며, 시험군과 대조군의 공시험군(blank)은 각각 조제한 후 배양하지 않은 것을 사용하였다.

<53> 모든 배양액은 4개씩 준비하여 최대한 오차를 피하였으며, 배양 직전에 질소 가스(순도: 99.999%)를 충진하여 오염을 방지하였다. 30일 후 배양액에서 생성된 최종당화산물의 함량을 분석하였다. 최종당화산물은 형광, 갈색을 띠고 있으며 교차결합을 할 수 있는 물리화학적인 특성을 지니고 있을 뿐 아니라 세포막 수용체가 인지할 수 있는 배위자를 지니고 있다. 이러한 특성을 지닌 최종당화산물의 양을

분광광도계(여기-350nm, 방출-450nm)로 측정하여 그 생성억제정도를 분석하였다.

<54> 생성억제율은 하기의 식으로 계산하였다.

<55> $\text{생성억제율}(\%) = 100 - [(\text{시료군의 형광강도} - \text{시료 공시험군의 형광강도}) / (\text{대조군의 형광강도} - \text{대조군 공시험군의 형광강도})] \times 100$

<56> 2. 대극, 강후박, 초갈근 및 감초 추출물의 최종당화산물 생성억제효능

<57> 대극, 강후박, 초갈근 및 감초 추출물을 일정농도로 15% 트윈 80에 용해한 것을 사용하여 90일간 배양하는 것을 제외하고는, 상기 1과 동일한 방법으로 실험하였다.

<58> 양성대조군으로는 아미노구아니딘·HCl(aminoguanidine·HCl)을 일정한 농도로 중류수에 용해한 것을 사용하여 30일간 및 90일간 배양하는 것을 제외하고는, 상기 1과 동일한 방법으로 실험하였다.

<59> 결과는 도 1 및 표 1에 나타내었다.

【표 1】

	최종당화산물 생성억제율(%)		IC ₅₀ 값 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
	농도($\mu\text{g}/\text{mL}$)	억제율(%)	
혼합 생약조성물 (30일 배양)	5.0	23.245±0.698	18.12

		10	44.998±1.396	
		25	63.548±2.234	
		50	93.283±5.187	
대극 추출물 (90일 배양)		25	34.680±2.685	32.07
		50	56.456±2.422	
		100	64.260±0.871	
		200	93.376±0.921	
		250	96.853±0.982	
강후박 추출물 (90일 배양)		25	14.922±5.040	27.80
		50	94.135±3.192	
초갈근 추출물 (90일 배양)		25	25.155±1.542	42.50
		50	64.712±3.069	
		100	100	
		200	100	
		250	100	
감초 추출물 (90일 배양)		25	49.37±1.802	28.40
		50	62.262±14.68	
		100	100	
		200	100	
		250	100	
아미노구아니딘 · H Cl	30일 배양	27.5	45.78±2.400	34.90
		55	55.43±4.000	
		110	73.52±1.750	
		550	96.41±2.200	
	90일 배양	27.5	39.647±3.406	30.80
		55	65.712±3.242	
		110	65.714±5.394	
		55	89.873±2.554	

<61> 표 1에 나타난 바와 같이, 본 발명의 혼합 생약조성물은 30일간 배양한 경우 IC_{50} 가 $18.12\mu g/ml$ 로 매우 낮게 나타나, 최종당화산물의 생성억제효능이 우수함을 알 수 있다.

<62> 반면 대극, 강후박, 초갈근 및 감초 추출물은 90일간 배양시 낮은 IC_{50} 을 나타내어 최종당화산물의 생성억제효능이 우수함을 알 수 있지만, 각 개별 추출물을

30일간 배양시에는 그 효능이 그다지 우수하지 않았다. 즉, 각 개별 추출물은 장기간 투여시 비로소 그 효능이 나타남을 알 수 있다.

<63> 또한, 본 발명의 혼합 생약조성물은 양성대조군인 아미노구아니딘·HCl보다도 훨씬 저농도의 IC₅₀을 나타냄으로써, 최종당화산물 생성억제효능이 매우 우수함을 알 수 있다.

<64> 따라서, 본 발명의 혼합 생약조성물은 각각의 개별 생약추출물보다 최종당화산물의 생성억제효능이 증강되었음을 알 수 있다.

실험예 2 : 본 발명의 생약조성물의 당뇨합병증 치료효과

<65> 본 발명의 혼합 생약조성물의 당뇨합병증의 치료효과를 알아보기 위하여, 하기와 같은 실험을 수행하였다.

1. 실험동물

<66> SD계 4주령 120~140g의 수컷 랫트를 케이지에 한 마리씩 수용하고 일반 고형사료와 물을 자유롭게 공급하면서 1주일간 본 연구원의 동물실에 적응시켰다.

<67> 동물실의 환경조건은 온도 23±3°C, 상대습도 50±10%, 조명시간 12시간(오전 8시 ~ 오후 8시), 환기횟수 10~20회/시간, 조도 150~300Lux로 설정되었다. 시험기간 동안 동물실의 온도와 습도는 항온습기에 의해서 자동적으로 조절하였으며, 조도 등의 환경 조건을 정기적으로 측정하고, 시험에 영향을 미치는 변동은

없었다.

<70> 실험동물은 1) 정상군에 카르복시메틸셀루로즈(carboxyl methyl cellulose)를 투여한 군(NC + CMC), 2) 당뇨 유발군에 카르복시메틸셀루로즈를 투여한 군(DC + CMC), 3) 당뇨 유발군에 혼합 생약조성물을 투여한 군(DC + HMP), 4) 당뇨 유발군에 양성 대조군(에팔레스타트)을 투여한 군[DC + S11] 등 4개군으로 나누고, 당뇨 유발군에는 9~10 마리, 정상군에는 5~6 마리씩 분배하였으며, 체중이 비슷하게 골고루 분산하였다.

2. 스트렙토조토신(Streptozotocin)에 의한 당뇨합병증 유발

<71> 스트렙토조토신(N-[methylnitrosocarbamoyl]-D-glucosamine; STZ)은 베타 세포를 선택적으로 파괴시켜 인슐린 결핍으로 인한 고혈당을 유발시키는 화학물질로, 이를 이용하여 당뇨병을 유발하였다. 특히 고용량 단회 투여 방법(Single high dose streptozotocin; SHDS)은 베타 세포의 대량 괴사로 인한 급격한 고혈당을 비가역적으로 유발시키며, 비가역적인 고혈당 상태를 유발하므로 당뇨병성 합병증 모델에 적합하다고 볼 수 있다.

<73> 실험동물들을 1주일간 본 동물실에 적응시킨 후 하루 밤 절식시키고 투여 직전에 0.1M 구연산 완충액(citrate buffer, pH 4.5)에서 제조한 스트렙토조토신 용액을 체중 kg당 60mg을 복강주사하였다. 스트렙토조토신 용액 투여 2일 후 꼬리 정맥혈을 취하여 혈당(blood glucose level)을 조사하고 300mg/dl 이상인 랫트를 당뇨 유발 랫트로 하였다.

<74> 양성대조군으로는 당뇨병성 합병증 치료제로 사용되고 있는 에팔레스타트(Epalrestat; ONO-2235; S11로 표기)를 사용하였다.

<75> 3. 일반적 관찰(체중, 사료 및 물 섭취량의 변화)

<76> 만성 당뇨병성 합병증의 치료효과를 보기 위하여, 랫트에 30일간 당뇨병 상태를 계속 진행시킨 후 31일째 되는 날부터 약 8주간 약물들을 투여하였다.

<77> 본 실험에 사용하는 혼합 생약조성물(HMP)과 에팔레스타트(S11)는 비수용성이므로, 1% 카르복시메틸셀루로즈에 녹여 사용하였으며, 정상군에는 카르복시메틸셀루로즈를 투여하여 카르복시메틸셀루로즈에 의한 영향을 배제하였다.

<78> 정상군을 제외한 당뇨 유발군 2개군에 상기 실시예 2에서 제조한 혼합 생약조성물(HMP) 1g/kg과 양성대조군인 에팔레스타트(S11) 25mg/kg을 각각 1% CMC에 녹여 준대를 이용하여 날마다 랫트에 8주간 경구투여하였다.

<79> 투약 기간 동안 시료를 투여한 후, 부검 하루 전 실험동물을 15시간 이상 절식시킨 후 체중을 측정하였다.

<80> 체중은 날마다 측정하였으며, 사료량은 1주일에 한번씩, 물 섭취량은 날마다 측정하였다.

<81> 결과는 표 2에 나타내었다.

【표 2】

	초기(g)	말기(g)	체중 증가량(g)
NC + CMC	209.26±28.94	462.09±32.91	252.83
DC + CMC	154.33±27.26	220.50±64.28	66.17

DC + HMP	153.50 ± 45.06	251.71 ± 40.01	98.21
DC + S11	154.03 ± 45.46	283.24 ± 42.60	129.21

<83> ※ NC + CMC : 정상균 + 카르복시메틸셀루로즈,

<84> DC + CMC : 당뇨 유발균 + 카르복시메틸셀루로즈,

<85> DC + HMP : 당뇨 유발균 + 혼합 생약조성물,

<86> DC + S11 : 당뇨 유발균 + 양성 대조군(에팔레스타트)

<87> 표 2에 나타난 바와 같이, 정상균의 체중은 252.83g 정도 증가되었으며, 당뇨 유발균은 66.17g 만이 증가되었다. 또한, 당뇨 유발균에 혼합 생약조성물(HMP)을 투여한 군은 98.21g이 증가되었고, 당뇨 유발균에 양성대조군인 에팔레스타트(S11)를 투여한 군은 129.21g 증가되었다. 이와 같이, 본 발명의 혼합 생약조성물을 투여한 군은 에팔레스타트(S11) 투여군보다 체중 증가량이 적었지만 당뇨 유발균보다는 증가함을 알 수 있다.

<88> 또한, 당뇨 유발균은 저체중에도 불구하고 정상균에 비해 약 2배의 사료를 섭취하였고, 양성대조군인 에팔레스타트(S11) 투여군은 그보다 더 많이 섭취하였다. 그러나 본 발명의 혼합 생약조성물 투여군은 당뇨 유발균에 비해 약간 적은 양을 섭취하였고, 당뇨 유발균은 정상균에 비해 약 7배 정도의 물을 섭취하였다.

<89> 또한, 본 발명의 혼합 생약조성물 투여군은 당뇨 유발균에 비하여 약 5배 정도 감소된 물을 섭취하였고, 양성대조군인 에팔레스타트(S11) 투여군은 당뇨 유발

군보다 더 많은 물을 섭취하였다.

<90>

4. 장기 무게 측정

<91>

부검 하루 전 실험동물을 15시간 이상 절식시킨 후 체중을 측정하고, 에틸에테르로 마취시켜 복대동맥을 통해 채혈하였다. 혈액 중의 일부는 해파린으로 처리하고, 일부 전혈을 3,000rpm, 4°C에서 15분간 원심분리하여 각각 플라즈마를 분리하여 -80°C에서 보관하여 각각의 테이터 분석에 사용하였다.

<92>

신장은 관류세척한 후 떼어내어 무게를 측정하고, 피질과 수질을 분리하여 급냉한 후 -80°C에서 보관하였다. 이외에 간, 폐, 췌장, 비장, 심장을 분리하여 무게를 측정하였다.

<93>

결과는 표 3에 나타내었다.

【표 3】

<94>

		심장	간	비장	폐	신장	췌장
N C + CMC	절대무게(g)	1.1 6 ± 0.07	1 0.60 ± 0.72	0. 79 ± 0.10	1. 84 ± 0.23	2. 65 ± 0.18	1. 13 ± 0.21
	상대무게(%)	0.2 5 ± 0.02	2. 30 ± 0.12	0. 17 ± 0.02	0. 40 ± 0.04	0. 58 ± 0.04	0. 25 ± 0.05
D C + CMC	절대무게(g)	$0.84 \pm 0.18^{**}$ *	1.0 0.30 ± 1.99	$0.46 \pm 0.15^*$ **	$1.44 \pm 0.24^*$ *	2.92 ± 0.45 *	$0.79 \pm 0.24^*$
	상대무게(%)	$0.37 \pm 0.06^{**}$ *	$4.62 \pm 0.71^*$ **	$0.20 \pm 0.03^*$	$0.65 \pm 0.14^*$ **	$1.35 \pm 0.37^*$ **	$0.35 \pm 0.09^{**}$

D C + HMP	절대무게(g)	0.88±0.14**	1 0.71±1.21 **	0.48±0.10*	1.58±0.21*	2. 95±0.48	0. 93±0.14
	상대무게(%)	0.35±0.03** * **	4.31±0.48* **	0. 19±0.02 **	0.64±0.08* **	1.18±0.10* **	0. 38±0.07***
D C + S11	절대무게(g)	0.9 5±0.11	1 1.63±1.08	0. 54±0.09	1. 55±0.13	3. 18±0.30	0. 86±0.11
	상대무게(%)	0.34±0.03** * **	4.15±0.40* **	0. 19±0.02 **	0.55±0.06* **	1.14±0.11* **	0.31±0.05*

<95> ※ NC + CMC : 정상균 + 카르복시메틸셀루로즈,

<96> DC + CMC : 당뇨 유발균 + 카르복시메틸셀루로즈,

<97> DC + HMP : 당뇨 유발균 + 혼합 생약조성물,

<98> DC + S11 : 당뇨 유발균 + 양성 대조군(에팔레스타트)

<99> 정상균과의 통계 비교 (* : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001)

<100> 표 3에 나타난 바와 같이, 상대장기무게의 경우 당뇨 유발균은 정상균에 비하여 췌장을 제외한 모든 장기가 비대해졌으며, 그 중에서 신장과 간은 2배 이상 증가하였다. 본 발명의 혼합 생약조성물 투여군은 당뇨 유발균에 비하여 각 장기의 비대 현상이 감소되는 경향을 보였으나 유의성이 없었고, 양성대조군인 에팔레스타트(S11) 효능과 같은 경향을 나타내었다.

<101> 5. 혈청 생화학적 인자 분석

<102> 1) 혈당 강하 효과

<103> 부검하기 전까지 2주 간격으로 안와정맥에서 혈액을 취해 글루코스 키트를 이용하여 혈당을 측정하였다. 혈중 포도당(plasma glucose)의 함량은 글루코스 옥시다제(glucose oxidase)법을 이용하여 UV 500nm에서 측정하였다.

<104> 2) 신장 기능 개선 효과

<105> ① BUN(Blood Urea Nitrogen)

<106> BUN은 우레아제-인도페놀(urease-indophenol)법을 이용하여 580nm에서 흡광도를 측정하였다.

<107> ② 트리글리세라이드

<108> 트리글리세라이드(triglyceride)의 함량을 정량하기 위해서 효소법(POD)을 이용하여 550nm에서 측정하였다.

<109> ③ 총 콜레스테롤 양

<110> 총 콜레스테롤 함량의 측정을 위해서 효소적인 방법(enzymatic method)을 이용하여 500nm에서 분석하였다.

<111> ④ 크레아티닌

크레아티닌은 Jaffe 변법을 이용하여 515nm에서 흡광도를 측정하였다.

<113> ⑤ 단백질

혈청의 단백질은 BCA assay를 이용하여 측정하였다. 비신코닉익산

(Bicinchoninic acid), Na₂CO₃, NaHCO₃, C₄H₄O₆ Na₂ · 2H₂O를 0.1N NaOH와 섞어 만든 비

신코닉익산 용액과 4% CuSO₄ · 5H₂O 용액과 함께 반응시킨 후 562nm에서 흡광도를 측

정하였다.

<115> 결과는 표 4에 나타내었다.

【표 4】

	혈당치 (mg/dl)	BUN (mg/dl)	트리글리세라이드 (mg/dl)	총 콜레스테롤 (mg/dl)	크레아티닌 (mg/dl)	단백질 (ug/ul)
N C + CMC	12 4.93 ± 6.25	1 5.12 ± .54	33.38 ± 6.62	63.73 ± 11.05	1.54 ± 0.08	2.63 ± .28
D C + CMC	40 8.79 ± 63.10 ***	3 3.13 ± 5.13 ***	70.20 ± 13.14 ***	54.76 ± 11.85	1.75 ± 0.17 * 1	2.47 ± .42
D C + HMP	27 1.22 ± 72.28 ***,##	2 6.62 ± 3.51 ***,##	50.35 ± 16.63 #	53.56 ± 6.18	1.57 ± 0.28 * 1	2.35 ± 1.61 *
D C + S11	19 7.94 ± 76.66 *,##	2 3.60 ± 5.15 ***,##	46.18 ± 8.26 *.,##	59.50 ± 13.88	1.22 ± 0.16 **,## #	0.79 ± 0.85 ***,##

- <117> ※ NC + CMC : 정상군 + 카르복시메틸셀루로즈,
- <118> DC + CMC : 당뇨 유발군 + 카르복시메틸셀루로즈,
- <119> DC + HMP : 당뇨 유발군 + 혼합 생약조성물,
- <120> DC + S11 : 당뇨 유발군 + 양성 대조군(에팔레스타트)
- <121> 정상군과의 통계 비교 (* : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001)
- <122> 당뇨 유발군과의 통계 비교(# : p<0.05, ## : p<0.01, ### : p<0.001)
- <123> 표 4에 나타난 바와 같이, 혈당은 당뇨 유발군이 $408.79 \pm 63.10 \text{ mg/dl}$ 이며, 본 발명의 혼합 생약조성물 투여군은 $271.22 \pm 72.28 \text{ mg/dl}$ 로 당뇨 유발군에 비하여 혈당강하 효과가 우수하다($p < 0.01$). 양성대조군인 에팔레스타트(S11) 투여군은 $197.94 \pm 76.66 \text{ mg/dl}$ 으로 나타났다.
- <124> 또한, 신장 기능 지표인 BUN 수치는 당뇨 유발군의 경우 정상군에 비하여 약 2.4배 정도 높게 나타났으며, 본 발명의 혼합 생약조성물 투여군은 당뇨 유발군에 비하여 유의성 있게 그 수치가 떨어졌다($p < 0.05$).
- <125> 또한, 트리글리세라이드는 당뇨 유발군의 경우 많이 증가하였고($33.38 \pm 6.62 \text{ mg/dl} \rightarrow 70.20 \pm 13.14 \text{ mg/dl}$; $p < 0.001$), 본 발명의 혼합 생약조성물 투여군의 경우 당뇨 유발군에 비하여 유의성 있게 감소하였다($50.35 \pm 16.63 \text{ mg/dl}$; $p < 0.05$).
- <126> 또한, 크레아티닌 수치는 당뇨 유발군의 경우 $1.54 \pm 0.08 \text{ mg/dl}$ 에서 $1.69 \pm$

0.24mg/dl로 현저하게 증가되었고, 본 발명의 혼합 생약조성물 투여군의 경우 1.51 ± 0.26 (mg/dl)로까지 떨어졌다. 크레아티닌 역시 신기능의 지표로 사용되나 BUN과 같이 예민한 수치가 아니다. 그러므로 사구체 여과율이 50% 이상 감소되어도 그 수치는 정상범위에 머무른다. 이러한 특성을 고려할 때 1.51 ± 0.26 mg/dl이란 수치는 신기능이 매우 좋아진 것을 의미한다. 상기 표 3에서와 같이 본 발명의 혼합 생약조성물의 투여로 신장의 비대증상이 당뇨유발군에 비하여 감소된 것으로 신장기능이 개선된 것을 확인할 수 있다.

<127> 따라서, 본 발명의 혼합 생약조성물 투여군은 신장비대 현상 저하와 BUN, 트리글리세라이드, 크레아티닌 수치가 당뇨 유발군에 비하여 현저히 감소되었으므로, 신장 기능이 매우 호전되었음을 알 수 있다.

6. 항백내장 효과

<129> 현미경 아래에서 적출한 안구로부터 수정체를 분리하여 식염수 2ml씩 담아 놓은 24 웰 플레이트로 옮긴 후 현미경상에 부착된 디지털 카메라로 사진을 찍었다. 혼탁정도는 찍은 사진을 화상분석 시스템 프로그램을 이용하여 분석하였다.

<130> 수정체를 카메라로 찍고 무게를 측정한 후 인산완충용액(pH 6.9)을 가하고 4 °C에서 균질화한 다음, 효소활성 측정을 위하여 균질액의 일부를 3,000rpm에서 20 분간 원심분리하여 상등액을 취하고 -80°C에서 보관하였다. 솔비톨(sorbitol) 등의

함량 측정을 위하여 나머지 균질액에 ZnSO₄와 NaOH를 첨가하여 단백질을 제거하고 3,000rpm에서 20분간 원심분리하여 상등액을 취하여 -80°C에서 보관하였다.

<131> 안구를 육안으로 관찰한 상태는 도 2에 나타내었으며, 수정체의 혼탁정도는 표 5 및 도 3에 나타내었다.

【표 5】

	수정체 혼탁도(20 pixel/m ²)	수정체 혼탁도(%)
NC	39.91±23.36	8.31±5.21
DC	200.53±47.88	66.84±14.89 ***
DC + HMP	136.54±73.52	37.20±20.25 **,##
DC + S11	134.04±45.00	37.38±13.56 **,##

<133> ※ NC : 정상군,

<134> DC : 당뇨 유발군,

<135> DC + HMP : 당뇨 유발군 + 혼합 생약조성물,

<136> DC + S11 : 당뇨 유발군 + 양성 대조군(에팔레스타트)

<137> 정상군과의 통계 비교 (* : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001)

<138> 당뇨 유발군과의 통계 비교(## : p<0.01, ### : p<0.001)

<139> 도 2에 나타난 바와 같이, 당뇨를 유발한지 6주째부터 당뇨 유발군에서 백내

장이 나타나기 시작하였다. 부검 당일 모든 군의 안구 상태는 당뇨 유발군의 경우 7마리 중 3마리의 안구가 하얗게 덮혀졌으며 1마리는 아주 약한 증세를 보였다. 양

성대조군인 에팔레스타트(S11) 투여군은 7마리 중 4마리의 양쪽 안구가 하얗게 덮혀 있고, 1마리는 오른쪽 안구에 약한 증세를 보였다. 양성대조군인 에팔레스타트(S11) 투여군에서 5마리나 백내장 효과가 나타난 것은 스트랩토조토신 유도를 2차 실시한 랫트가 2마리나 있기 때문임을 추측할 수 있다. 일반적으로 2차 스트랩토조토신 유도까지 실시할 경우 체중 증가 정도가 적고, 수정체 혼탁도도 심한 것으로 알려져 있다. 또한 본 발명의 혼합 생약조성물 투여군은 7마리 중 3마리의 양쪽 안구에 백내장 증세를 나타내었다.

<140> 또한, 표 5에 나타난 바와 같이, 평균 수정체 혼탁율은 정상군의 경우 $8.31 \pm 5.21\%$ 이며, 당뇨 유발군의 경우 $66.84 \pm 14.89\%$ 로 당뇨 유발군의 수정체 혼탁율이 심함을 알 수 있다. 또한, 당뇨 유발군에 양성대조군인 에팔레스타트(S11) 및 본 발명의 혼합 생약조성물을 각각 투여하였을 때는 각각 $37.38 \pm 13.56\%$ ($p<0.001$), $37.20 \pm 20.25\%$ ($p<0.01$)로 유의성 있게 백내장 현상이 감소되었다.

<141> 또한, 도 3에 나타난 바와 같이, 정상군의 수정체 혼탁율은 20% 이하로 나타났으며, 외관상으로 볼 때도 매우 맑았다. 20% 정도의 혼탁율은 정상 상태로 볼 수 있다. 당뇨병 유발군의 수정체 혼탁율은 모두 40% 이상이며, 대부분 60% 이상의 수정체 혼탁율을 보였다. 80% 이상 나타난 랫트도 8마리 중 3마리 존재하였다. 그러나 양성대조군인 에팔레스타트(S11)를 투여한 군은 수정체 혼탁율이 대부분 40% 정도였으며, 60% 이상의 혼탁율을 보인 랫트는 한 마리도 없었다. 본 발명의 혼합 생약조성물을 투여한 군의 수정체 혼탁율은 대부분 40% 내외이며, 그 중에서 정상치 수준을 보인 것도 있었고, 60%을 넘은 랫트는 2마리였다.

<142> 따라서, 본 발명의 혼합 생약조성물은 만성 당뇨병으로 인한 백내장 발현의 예방 및 치료에 효과적으로 사용할 수 있다.

<143> **실험예 3 : 랫트에 대한 경구투여 급성독성실험**

<144> 본 발명의 혼합 생약조성물의 급성 독성을 알아보기 위하여 하기와 같은 실험을 수행하였다.

<145> 실험동물로 6주령의 특정병원부재(SPF) SD계 랫트를 사용하여 급성독성실험을 실시하였다. 군당 2마리씩의 동물에 상기 실시예에서 제조한 혼합 생약조성물을 물에 혼탁하여 6g/kg/15ml의 용량으로 단회 경구 투여하였다. 시험물질 투여 후 동물의 폐사여부, 임상증상 및 체중변화 등을 관찰하고 혈액학적 검사와 혈액생화학적 검사를 실시하였으며, 부검하여 육안으로 복강장기와 흉강장기의 이상여부를 관찰하였다. 시험결과, 시험물질을 투여한 모든 동물에서 특기할 만한 임상증상은 없었고 폐사된 동물도 없었으며, 또한 체중변화, 혈액검사, 혈액생화학검사, 부검소견 등에서도 독성변화는 관찰되지 않았다.

<146> 이상의 결과 본 발명의 혼합 생약조성물은 모두 랫트에서 6g/kg 까지 독성변화를 나타내지 않았으며, 경구투여 최소치사량(LD₅₀)은 적어도 6g/kg 이상인 안전한 물질로 판단되었다.

<147> **제제예 1 : 정제의 제조**

<148> 상기 실시예 1에 따라 제조된 혼합 생약조성물 100.0mg, 옥수수전분 90.0mg, 유당 175.0mg, 엘-히드록시프로필셀룰로오스 15.0mg, 폴리비닐파롤리돈 905.0mg 및 에탄올 적량의 원료를 균질하게 혼합하여 습식과립법으로 과립화하고 스테아린산 마그네슘 1.8mg을 가하여 혼합한 후 1정이 400mg이 되도록 타정하였다.

<149> **제제예 2 : 캡슐제의 제조**

<150> 상기 실시예 1에 따라 제조된 혼합 생약조성물 100.0mg, 옥수수전분 80.0mg, 유당 175.0mg 및 스테아린산 마그네슘 1.8mg을 균일하게 혼합하고 1캡셀에 360mg씩 충전하였다.

<151> **제제예 3 : 기능성음료의 제조**

<152>	꿀	522mg
<153>	치옥토산아미드	5mg
<154>	니코틴산아미드	10mg
<155>	염산리보플라빈나트륨	3mg
<156>	염산피리독신	2mg
<157>	이노시톨	30mg
<158>	오르트산	50mg
<159>	본 발명의 생약 추출물	500mg

<160>

물

200㎖

<161>

상기 조성 및 함량으로 하여 통상적인 방법을 사용하여 음료를 제조하였다.

【발명의 효과】

<162>

본 발명의 혼합 생약조성물은 최종당화산물의 생성을 효과적으로 억제하고, 혈당 강하 효과가 우수하며, 체중저하 방지, 신장비대 현상 저하와 BUN, 트리글리세라이드, 크레아티닌 등의 수치가 유의성있게 감소되어 신장 기능의 악화를 억제 하며, 수정체 혼탁율을 현저히 감소시켜 백내장 현상이 자연 및 예방된다.

<163>

따라서, 본 발명의 혼합 생약조성물은 최종당화산물의 생성에서 기인되는 당뇨합병증의 예방 및 치료에 유용하게 사용될 수 있다. 또한, 본 발명의 혼합 생약조성물은 최종당화산물의 생성을 억제하는 경우 자유라디칼 생성의 저하 및 산화적 스트레스의 유발 비율이 줄어들어, 산화적 스트레스에 의한 노화의 방지 및 자연에 유용하게 사용될 수 있다.

【특허청구범위】

【청구항 1】

대극, 강후박, 초갈근 및 감초를 각각 5~85 중량% 포함하는 당뇨합병증 예방 및 치료용 약학 조성물.

【청구항 2】

제 1항에 있어서, 상기 당뇨합병증은 당뇨성 망막병증, 당뇨성 백내장, 당뇨성 신증, 당뇨성 신경병증 중에서 선택된 것을 특징으로 하는 당뇨합병증 예방 및 치료용 약학 조성물.

【청구항 3】

제 2항에 있어서, 상기 당뇨합병증은 당뇨성 백내장, 당뇨성 신증인 것을 특징으로 하는 당뇨합병증 예방 및 치료용 약학 조성물.

【청구항 4】

대극, 강후박, 초갈근 및 감초를 각각 5~85 중량% 포함하는 당뇨합병증 예방 및 치료용 식품 조성물.

【청구항 5】

제 4항에 있어서, 상기 당뇨합병증은 당뇨성 망막병증, 당뇨성 백내장, 당뇨성 신증, 당뇨성 신경병증 중에서 선택된 것을 특징으로 하는 당뇨합병증 예방 및 치료용 식품 조성물.

【청구항 6】

제 5항에 있어서, 상기 당뇨합병증은 당뇨성 백내장, 당뇨성 신증인 것을 특징으로 하는 당뇨합병증 예방 및 치료용 식품 조성물.

【청구항 7】

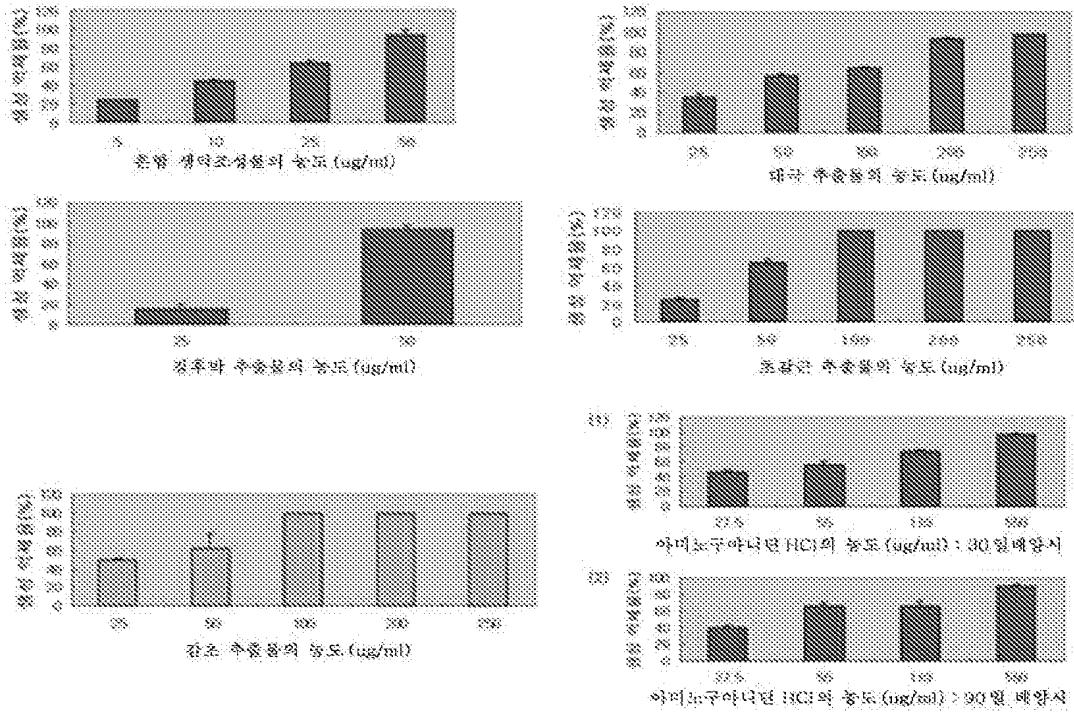
대극, 강후박, 초갈근 및 감초를 각각 5~85 중량% 포함하는 노화방지 및 자연용 약학 조성물.

【청구항 8】

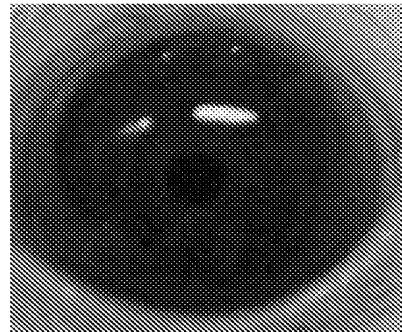
대극, 강후박, 초갈근 및 감초를 각각 5~85 중량% 포함하는 노화방지 및 자연용 식품 조성물.

【도면】

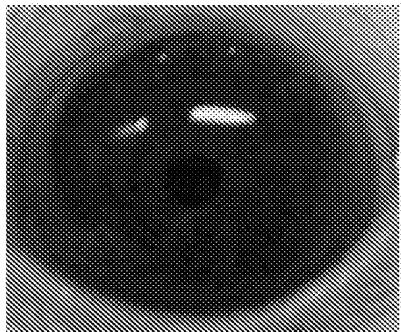
【도 1】



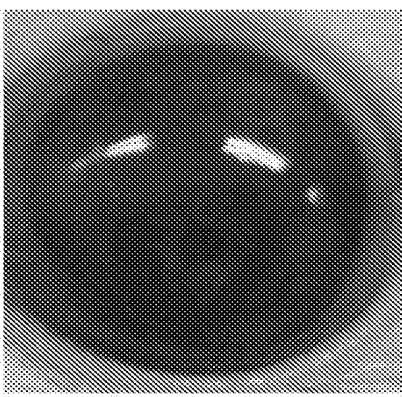
【도 2】



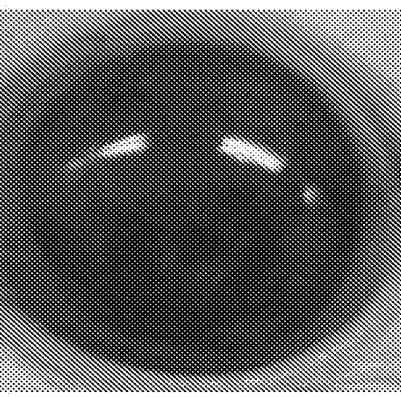
정상군 (NC)



당뇨유발군 (DC)

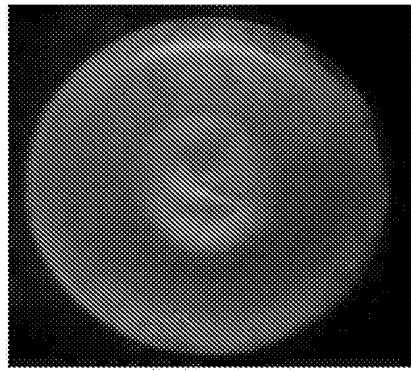


당뇨유발군 + 혼합 생약조성물 (DC+RMP)

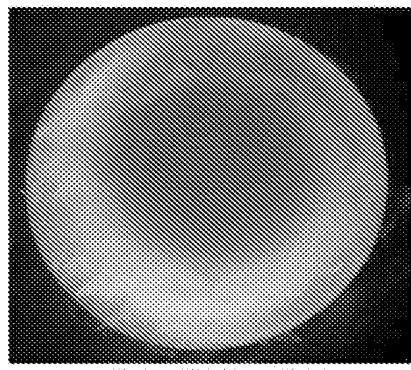


당뇨유발군 + 애월레스타트 (DC+SII)

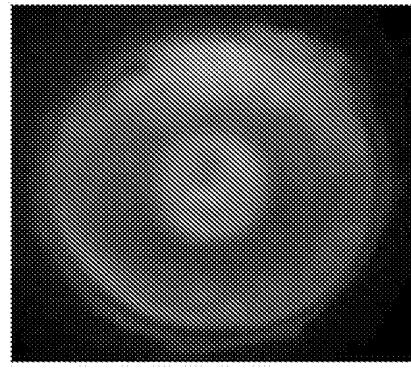
【도 3】



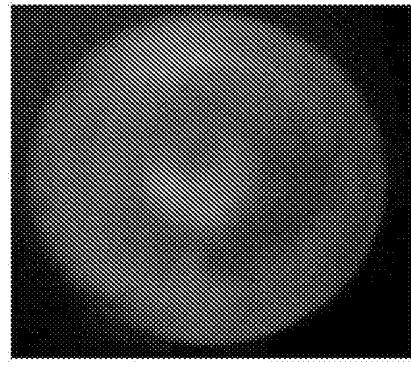
정상군 (NC)



당뇨유발군 (DC)



당뇨유발군 + 혼합생약조성물 (DC+HMP)



당뇨유발군 + 애벌레스타트 (DC+S11)